

**PROTOCOLE D'ESSAI SUR L'ACTION DE LA GA3 POUR
L'AIDE AU SCREENING DES VARIANTS SOMACLONAUX.**

**CIRAD/FLHOR Martinique
Recherche appliquée banane
P.O. Précart, Septembre 1993.**

PROTOCOLE D'ESSAI DE L'ACTION DE LA GA₃ POUR L'AIDE AU SCREENING DES VARIANTS SOMACLONAUX DU BANANIER

Pierre-Olivier PRECART

THEME

La culture in-vitro du bananier produit un certain nombre de variants. il est nécessaire de les éliminer pour assurer l'homogénéité de la production.

On considère que 75 % des variants sont de type nain (1) ; par ailleurs à partir de clones de type Grande naine et de type nain, une étude a montré que la réponse à la Gibbérelline de type GA₃ était différente pour ces 2 types. La stimulation par GA₃ étant faite sur la feuille émergente, on observe sur cette feuille et sur la suivante, la longueur et la largeur du pétiole, ainsi que la longueur du pétiole. La différence entre les 2 types porte surtout sur la longueur du pétiole ; on observe une augmentation de la longueur du pétiole de 50 % pour la Grande Naine contre 13 % pour le type nain (1).

On se propose donc d'appliquer cette observation au screening des variants pour voir si ces différences s'expriment et permettent de mieux reconnaître les variants des plants normaux ; Ce traitement par GA₃ permettrait d'identifier plus facilement les variants nains et peut-être aussi de mettre en évidence les autres types de variants.

I) BUT DE L'ESSAI - QUESTIONS POSES

Lors d'un screening, les plants sont classés en 3 lots (voir p) :

- plants douteux (A)
- plants variants (B)
- plants "normaux" (C)

On se propose de faire un premier screening. On isole alors le lot A des douteux et le lot B des variants. Le traitement par la GA₃ est effectué sur ces lots suivant les conditions des expériences proposées. On observe ensuite après 15 jours, l'évolution du lot A (en "normaux", douteux et variants) et l'évolution du lot B (évolution de la morphologie des variants)

(1) Référence : Caractérisation morphologique de vitroplants variants nains de bananier (*Musa acuminata*) - Analyse qualitative du métabolisme des Gibbérellines par Florence Kerbellec.

On se pose les questions suivantes :

- 1 - Quelle concentration de gibbérelline permet de mieux différencier les variants des plants normaux ?
- 2 - Les variants nains sont-ils mieux séparés grâce à la gibbérelline ?
Autrement dit, ce traitement permet-il de diminuer le pourcentage de plants douteux en faveur de celui des plants normaux et des variants ?
- 3 - Ce traitement permet-il de mettre en évidence les autres variants ?

II - FACTEURS ETUDIÉS

Les screenings sont faits visuellement ; les caractères étudiés concernent la morphologie des feuilles et des plants.

Les plants ont une morphologie originale et sont classés "douteux". On peut observer différents types morphologiques pour les plants douteux qui sont alors susceptibles d'être des variants.

On observe principalement les types suivants :

- plants à feuilles rondes et courtes, pétioles longs
- plants robustes et engorgés, feuilles rondes, pétioles longs
- plants à feuilles présentant des marbrures transparentes
- plants à feuilles très rondes et à port plat
- plants engorgés, à feuilles longues et fines.

On reconnaît les variants lorsque les caractères morphologiques sont bien marqués. Le screener habitué pourra alors facilement les éliminer lorsque les caractères suivants seront réunis et bien marqués :

- variants nains : plus petits, plus engorgés (pétioles plus courts), feuilles plus arrondies avec port "en cuillères"
- variants de types mosaïc-likes : décoloration transparente et brillante sous forme de traces irrégulières sur la face inférieure des limbes. Anomalie de la régularité et de la coloration des tâches juvéniles de la face supérieure.
- variants de types tiretés ou panachés déformés : traces blanches, plants déformés et/ou à feuilles découpées en forme régulière de lobe sur un côté du limbe.
- variants de type A : identification difficile, morphologie des limbes proche de celle des variants de type B (nain) avec une coloration légèrement plus claire.

Pour déterminer la concentration de GA_3 qui donne la meilleure réponse, on étudie la longueur des pétioles.

Soit L_v = longueur moyenne des pétioles des variants.

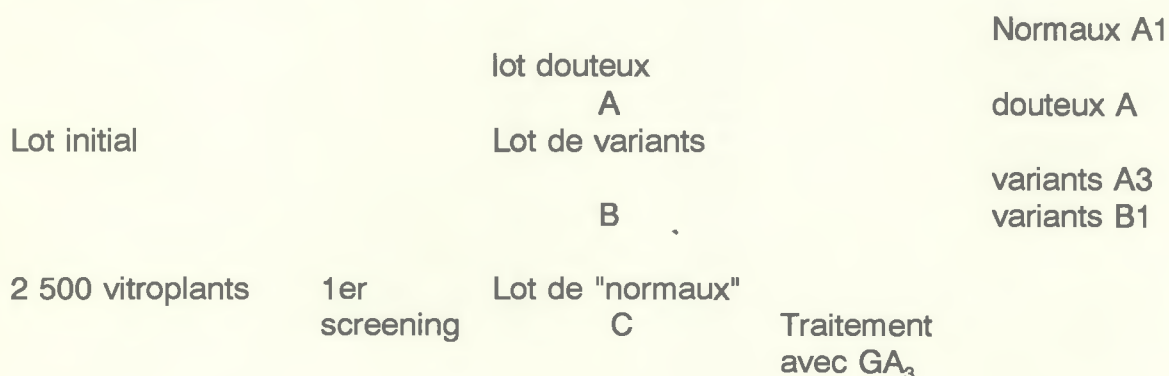
L_n = " " des plants "normaux"

On étudie $L_n - L_v = f([GA_3])$

III - MARCHE A SUIVRE ET TESTS STATISTIQUES

Schéma général

2ème screening



1) Expérience sur les réponses des plants en fonction de la concentration en GA_3

En milieu réel, plant avec dernière feuille à 25 cm.

Pour cette expérience, on regroupe les lots de douteux A et de variants B sur lesquels on fait 1 témoin et 3 traitement. Pour chaque traitement, on fera l'expérience deux fois. On observe alors la longueur des pétioles des lots de normaux A1 et celle des lots de variants A3+B1.

1 : témoin sans traitement

2 : traitement avec $[GA_3] = 25 \text{ ml/l}$

3 : traitement avec $[GA_3] = 30 \text{ ml/l}$

4 : traitement avec $[GA_3] = 35 \text{ ml/l}$

Chaque traitement avec les lots A et B de 2 lots initiaux.

On calcule alors la moyenne des différences entre les longueurs des pétioles des normaux et des variants :

L_n = longueur moyenne des pétioles des plants normaux A1

$x_{ik} = L_n - L_v$ L_v = longueur moyenne des pétioles des plants normaux A3 et B1

D'après l'essai d'identification précoce par Ph. Marie, à partir d'un lot initial de 2 500 individus, on obtient 164 plants douteux dont 40 variants.

lot initial	plants douteux	16 normaux
N = 2 500	164	108 douteux
		40 variants

Observation 15 jours après plantation

On se propose alors de ne pas fixer un nombre de plants pour effectuer les mesures des plants normaux et variants. Par contre, on peut fixer le nombre de plants douteux (lot A) à 150 plants.

Tableau des résultats

	1	2	3	4
1	x_{11}	x_{21}	x_{31}	x_{41}
2	x_{12}	x_{22}	x_{32}	x_{42}
x_i	x_1	x_2	x_3	x_4

x_{11} : moyenne des différences entre Ln et Lv pour le traitement témoin 1 et pour la 1ère observation

x_1 : moyenne des moyennes pour le traitement 1

x_i : moyenne générale de tous les traitements pour toutes les observations. On trace alors $x_i = f([GA_3])$

2) Expériences sur l'étude du traitement par GA_3 pour le screening des variants

2-1) On se propose d'étudier en premier lieu l'effet de la gibbérelline sur le pourcentage des douteux pour voir si ce traitement facilite le screening.

On se fixe alors :
 - 1-5 lots de 150 douteux témoins
 - 2-5 lots de 150 douteux traités par la gibbérelline GA_3
 à une certaine concentration.

On peut alors choisir ces plants douteux au début du stade grossissement pour avoir un nombre assez conséquent de douteux.

Soit : a_2 : nombre de plants dans le lot de douteux A_2
 et a : nombre de plants dans le lot de douteux A

On observe alors le % de douteux = $\frac{a_2}{a} \times 100 = x_{ik}$

NB : Pour éviter que le screener soit influencé, il sera attribué à chaque lot un numéro de 1 à 10 et les lots à traiter par GA_3 seront tirés au hasard. De plus, on choisit un traiteur et un screener pour que le screener ne sache pas quels lots ont été traités.

2-2) On étudie ensuite le % des variants dans "les plantés" pour voir la performances du screening avec et sans GA_3 . On plante alors les "normaux" du lot A1.

On fixe comme précédemment : 1-5 lots de 150 douteux témoins
2-5 lots de 150 douteux traités par la gibbérelline

On plante alors les normaux, puis on regarde le % des variants $= \frac{x}{a} \times 100$

x : nbre de variants parmi les normaux plantés

a_1 : nbre de normaux des lots A1

2-3) On observe aussi le % des normaux dans les plants éliminés par le screening pour voir s'il est économique.

On suit alors le même protocole que précédemment. Cette fois-ci on plante le lot douteux A_2 puis on les observe après un certain temps pour établir le % de normaux $= y \times 100$

y : nbre de normaux parmi les douteux plantés

a_2 : nbre de douteux dans le lot A2

2-4) Enfin on observe l'action de GA_3 sur les variants

On se fixe un nombre de variants :

- 15 plants de type Mosaïc like
- 15 plants de type C
- 15 plants de type considéré témoin

Pour cela on isole les plants de variants des types considérés dont on est sûr qu'ils sont variants. On traite alors ces plants à la gibbérelline puis on observe les différences éventuelles avec les plants témoins des types considérés.

Pour les expériences 1, 2 et 3, on a x_{ik} qui représente le % de douteux, le % de variants dans le lot à planter et le % des normaux dans les plants éliminés.

	Plants témoins i = 1	Plants traités i = 2
K = 1	x_1	x_{21}
2	x_{12}	x_{22}
3	x_{13}	x_{23}
4	x_{14}	x_{24}
5	x_{15}	x_{25}

A partir de ces résultats, les écarts entre les lots et entre plants témoins et traités, seront étudiés pour une analyse des variances pour savoir s'il existe ou non des différences significatives entre plants traités et témoins dans les différents cas.

IV - INTERPRETATION DES RESULTATS

1 - Concentration optimale de gibbérelline

On peut déterminer avec la courbe tracée $x = f[GA_3]$ la concentration en G_A optimale pour avoir une différence maximale entre la longueur des pétioles des plants témoins et des variants nains.

2-1 Effet de GA_3 sur le % des douteux

On s'attend à ce que le traitement diminue le % des douteux grâce à une reconnaissance plus facile des nains et des normaux. Si les écarts sont significatifs entre les plants traités et les témoins et que le % des douteux a diminué, on pourra alors considérer que le traitement par GA_3 facilite le screening.

2-2 Effet de GA_3 sur la performance du screening

Le % des variants dans "les plantés" traités et non témoins nous renseigne sur la performance du screening à éliminer les variants. On va donc interpréter les résultats de manière à voir si le traitement par GA_3 rend le screening plus ou moins performant.

2-3 Effet de GA_3 sur la réduction du nombre de "normaux" éliminés

On va interpréter ici l'analyse des variances pour voir si la gibbérelline permet de réduire le nombre de "normaux" éliminés et de rendre le screening plus économique.

2-4 Effet de GA_3 sur les autres types de variants

Il s'agit d'observer l'action de la gibbérelline sur les différents types de variants. On pourra alors déterminer si le traitement par GA_3 permet de mettre en évidence ces variants.